نشریه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی البرز، دوره ۶، شماره ۱، زمستان ۱۳۹۵، صفحات ۸۱-۷۵

پلی‌مورفیسم 9C/T- ژن سوپراکسیددیسموتاز II و ریسک ابتلا به کاتاراکت پیری

علیرضا نخعی[1]، مریم سرور طاهرآبادی[2*]

[1] دانشیار، دکترا بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

[2] کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۵/۲/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۱۶

چکیده

زمینه: کاتاراکت یکی از شایع‌ترین دلایل نابینایی در جهان است. کاتاراکت یک بیماری چندعاملی است که علت اصلی کاهش شفافیت عدسی در جمعیت سالخورده محسوب می‌شود. مهم‌ترین علت ایجاد کاتاراکت استرس اکسیداتیو است. استرس اکسیداتیو عدم تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل سیستم‌های آنزیماتیک و غیر آنزیماتیک می‌باشد. یکی از سیستم‌های دفاعی بدن در برابر رادیکال‌های آزاد آنزیم سوپراکسیددیسموتاز II (Mn SOD) می‌باشد که آنیون سوپراکسید را به پراکسیدهیدروژن و اکسیژن تبدیل می‌کنند. چندین پلی‌مورفیسم در رابطه با ژن SOD2 شناسایی‌شده است که در فعالیت این آنزیم تأثیر می‌گذارند. مطالعهٔ حاضر باهدف بررسی پلی‌مورفیسم C/T در توالی ۹- در ژن سوپر اکسیداز II در بیماران مبتلابه کاتاراکت پیری و مقایسه آن با افراد سالم صورت گرفت.

روش کار: در این مطالعه مورد- شاهدی، بر روی ۱۲۰ بیمار مبتلابه کاتاراکت که تحت عمل جراحی قرار گرفتند و ۱۰۴ فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل انجام‌شده است. از هرکدام از افراد مقدار ۲ سی‌سی خون تام در لوله حاوی EDTA جمع‌آوری شد. پس از استخراج DNA پلی‌مورفیسم با استفاده از تکنیک‌های PCR و RFLP تعیین گردید. نتایج فراوانی پلی‌مورفیسم‌ها با استفاده از آزمون آماری χ^2 مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: توزیع ژنوتیپ CC، CT و TT ژن SOD2 در گروه بیمار به ترتیب ۲۸/۳٪، ۴۳/۳٪ و ۲۸/۳٪ و در گروه کنترل نیز به ترتیب ۲۴٪، ۴۸/۱٪ و ۲۷/۹٪ بود.

نتیجه‌گیری: بین فراوانی پلی‌مورفیسم ژن SOD2 در گروه بیمار و کنترل ازلحاظ آماری ارتباط معناداری دیده نشد. این نتایج نشان می‌دهند که پلی‌مورفیسم ژن SOD2 با افزایش ریسک ابتلا به کاتاراکت پیری ارتباط ندارد.

کلمات کلیدی: رادیکال‌آزاد، استرس اکسیداتیو، کاتاراکت پیری، سوپراکسیددیسموتاز، پلی‌مورفیسم

*نویسنده مسئول:
کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران

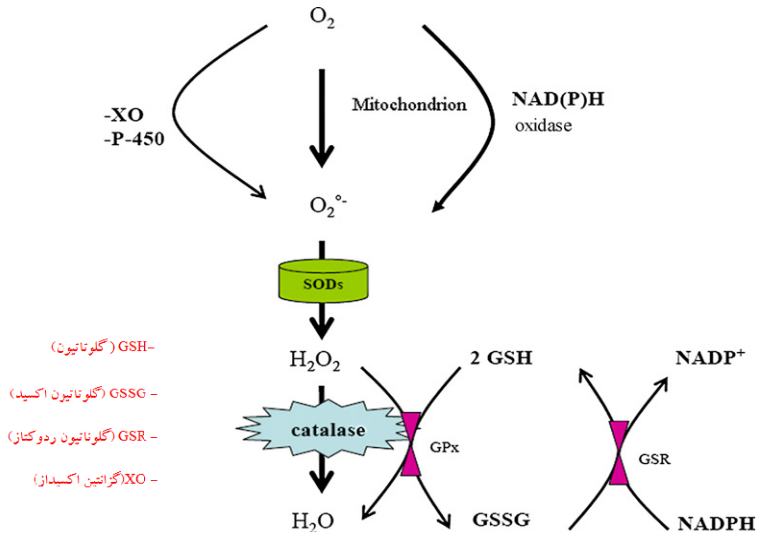
۰۹۱۲-۶۰۰۴۴۳۸
E-mail: bioshimi59@yahoo.com

مقدمه

شایع‌ترین نوع کاتاراکت که عمدتاً در سنین بالای ۴۵ سالگی دیده می‌شود کاتاراکت پیری است. تقریباً ۷۵٪ از جمعیت بالای ۷۵ سال از کدورت عدسی و کاتاراکت رنج می‌برند که علت اصلی ضعف بینایی و درنهایت نابینایی است. جراحی کاتاراکت از رایج‌ترین جراحی‌ها درزمینه چشم‌پزشکی است. هزینه بالای جراحی‌های کاتاراکت که سالانه انجام می‌شود مشکلاتی را برای سیستم درمانی ایجاد می‌کند. به دلیل اهمیت کاتاراکت، انجام تحقیقات برای توصیف علل ایجاد آن کاملاً ضروری به نظر می‌رسد. به‌ویژه آنکه بتوان از ناتوانی‌های احتمالی ناشی از آن پیشگیری نمود، همچنین هزینه‌های جراحی کاهش‌یافته که بهبود کیفیت زندگی را به دنبال دارد. چندین عامل از قبیل فشار اسمزی، تجمعات پروتئینی، استرس اکسیداتیو، تغییرات بعد از ترجمه پروتئین‌ها در ایجاد کاتاراکت نقش دارند. فاکتورهای دیگری از قبیل ارث، قرار گرفتن در معرض نور UV، رژیم غذایی، بعضی از اختلالات متابولیکی، کیفیت زندگی، عملکرد نادرست پمپ‌های کاتیونی و اختلال متابولیکی در عدسی نیز می‌توانند در تشکیل کاتاراکت دخیل باشند[۱].

همان‌طور که ذکر شد یکی از دلایل ایجاد کاتاراکت استرس اکسیداتیو می‌باشد. در پستانداران گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)(Reative Oxygen Species) از قبیل آنیون سوپراکسید در اثر احیاء ناقص اکسیژن مولکولی در زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی و در طی پاسخ سلولی به التهاب تولید می‌شود.[۲] به دلیل آن‌که رادیکال‌های آزاد یا گونه‌های فعال اکسیژن ترکیبات شیمیایی بسیار فعالی هستند می‌توانند از طریق حمله به ماکرومولکول‌هایی از قبیل لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک باعث آسیب اکسیداتیو به بافت‌های زنده شوند. در بدن مکانیسم‌های دفاعی علیه رادیکال‌های آزاد وجود دارد. تحت شرایط فیزیولوژیکی بین تولید رادیکال‌های آزاد و سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی تعادل وجود دارد. عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها تحت عنوان استرس اکسیداتیو نامیده می‌شود. استرس اکسیداتیو به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های تخریب مولکولی و بافت‌های سلولی در طیف وسیعی از بیماری‌های انسانی شناخته‌شده است.[۳]

یکی از سیستم‌های دفاعی بدن در برابر استرس اکسیداتیو آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که حتی وقتی‌که در غلظت‌های پایین وجود دارند با مواد قابل اکسید در بدن رقابت کرده و سایر ترکیبات را در برابر تخریب اکسیداتیو توسط ROSها محافظت می‌کنند.



شکل ۱: سیستم‌های حفاظتی آنزیماتیک

وجود تعادلی مناسب بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها برای عملکرد نرمال سلول‌ها و بافت‌ها ضروری می‌باشد[۳]. سیستم‌های حفاظتی مقابله با رادیکال‌های آزاد به دودسته سیستم‌های حفاظتی آنزیماتیک و سیستم‌های حفاظتی غیرآنزیماتیک تقسیم‌بندی می‌شوند[۴] آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان که ROSها را خنثی می‌کنند در سراسر بدن توزیع‌شده‌اند. این آنزیم‌ها شامل سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز می‌باشند[۴] (شکل ۱).

مواد و روش‌ها

مطالعه مورد- شاهدی حاضر، بر روی ۱۲۰ بیمار مبتلابه کاتاراکت پیری و ۱۰۴ فرد سالم که ازلحاظ سن و جنس با گروه بیمار همسان بودند، انجام گرفت. بیماران از افرادی انتخاب شدند که به علت ابتلا به کاتاراکت پیری مورد عمل جراحی قرار گرفتند و سن کمتر از ۶۵ سال داشتند. افراد سالم از بین افراد اهدا کنندهٔ خون مراجعه‌کننده به سازمان انتقال خون انتخاب شدند. افرادی که در هر دو گروه از مکمل‌های ویتامینی استفاده می‌کردند یا به آرتریت روماتوئید، دیابت، هپاتیت، بیماری‌های التهابی یا هر نوع بیماری سیستمیک دیگر مبتلا بودند و استعمال سیگار داشتند از مطالعه خارج شدند. از هر فرد ۲ سی‌سی خون در لوله حاوی EDTA جهت استخراج DNA جمع‌آوری شد. سپس DNA ژنومیک با استفاده از کیت شرکت (روش- آلمان) استخراج گردید. بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده با استفاده از روش اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز انجام شد. جهت تعیین نوع پلی مورفیسم از روش PCR-RFLP استفاده گردید.

بررسی پلی مورفیسم ژن سوپراکسیددیسموتاز II:

ازتوالی پرایمری زیر جهت بررسی پلی مورفیسم ژن سوپراکسیددیسموتاز II استفاده شد:

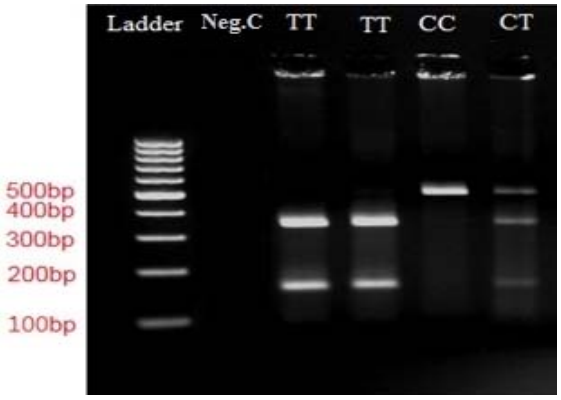
SOD2FORWARD: 5- CGGTGACGTTCAGGTTGTTCAC -3

SOD2REVERSE: 5- CAGCACTAGCAGCATGTTGAGC -3

واکنش PCR در حجم ۲۵میکرو لیتر شامل ۲/۵ میکرو لیتر بافرPCR ، ۰/۵ میکرو لیتر dNTP، ۲ میکرو لیتر از هر پرایمر،۱/۵ میکرو لیتر MgCl2 ، ۰/۵ میکرو لیتر آنزیم Taq DNA Polymerase، ۱۰ میکرو لیترDNA و ۶ میکرو لیتر آب تحت شرایط زیر انجام شد:

دمای$95^{\circ}C$ به مدت ۵ دقیقه جهت واسرشته سازی اولیه، سپس ۳۲ چرخه شامل: دمای$95^{\circ}C$ به مدت ۴۵ثانیه جهت واسرشته سازی، دمای$66^{\circ}C$ به مدت ۴۵ ثانیه برای اتصال پرایمرها و دمای$72^{\circ}C$ به مدت ۴۵ ثانیه جهت طویل سازی و درنهایت ۱۰ دقیقه در دمای$72^{\circ}C$ جهت طویل سازی نهایی.

سپس محصول PCR ۴۹۰ جفت بازی تحت اثر آنزیم Bsaw I (فرمنتاس- لیتوانی) قرار گرفت. در اثر جابجایی C با T در توالی۹- یک جایگاه برش برای این آنزیم محدودکننده ایجاد می‌گردد. درنتیجه قطعه فوق به دو قطعه ۱۵۲ و ۳۳۸ جفت بازی شکسته می‌شود. قطعات برش یافته بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد الکتروفورز و یا استفاده از رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید مشاهده گردیدند (شکل ۲).



شکل ۲: الکتروفورز محصول PCR و محصولات هضم آنزیمی ژن SOD2 در موقعیت ۹- توسط آنزیم Bsaw I بر روی ژل آگارز ۲/۵٪ با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید

جدول ۱: مشخصات دموگرافیگ بیماران مبتلابه کاتاراکت پیری و گروه کنترل

	گروه کنترل ۱۰۴n=	گروه بیمار ۱۲۰ n=	p-value
سن(سال)	۶۳/۷۲±۲/۲۲	۶۴/۶۳±۱/۸۵	۰/۳۴
جنس (زن/مرد)	۴۳/۶۱	۵۵/۶۵	۰/۵

پس از گردآوری اطلاعات لازم، یافته‌ها در نرم‌افزار SPSS (Version18) وارد گشته و جهت مقایسه فراوانی پلی‌مورفیسم در گروه شاهد و بیمار از آزمون Chi-square استفاده شد P<0.05 ازنظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در جدول شماره ۱ اطلاعات دموگرافیک گروه بیمار و کنترل مشاهده می‌شود.

همان‌طور که از جدول ۱ می‌توان نتیجه گرفت ازنظر جنسیت بین دو گروه سالم و بیمار اختلاف معناداری وجود ندارد (P-= ۰/۵ value). همچنین با توجه به اینکه دو گروه موردمطالعه ازنظر سن همسان‌سازی گردیده بودند ازنظر سنی نیز بین دو گروه بیمار و سالم اختلاف معناداری دیده نشد (P-value =۰/۳۴).

جدول شماره ۲ فراوانی ژنوتیپ پلی‌مورفیسم C/T ژن سوپراکسیددیسموتاز II در بیماران مبتلابه کاتاراکت پیری و افراد سالم نشان می دهد.

در بررسی پلی‌مورفیسم ژن SOD2 فراوانی ژنوتیپ CC، CT و TT در گروه بیمار به ترتیب ۲۸/۳٪، ۴۳/۳٪ و ۲۸/۳٪ و در گروه کنترل نیز به ترتیب ۲۴ ٪، ۴۸/۱٪ و ۲۷/۹٪ بود. بر طبق نتایج به دست آمده با استفاده از آزمون آماری Chi-square در گروه بیمار و کنترل بین پلی‌مورفیسم C/T در ژن SOD2 و ریسک ابتلا به کاتاراکت پیری ارتباط آماری معناداری مشاهده نشد(P-=۰/۷۰۹ value).

همچنین از مجموع ۱۲۰ نفر بیمار فراوانی آللی هر دو آلل C و T هرکدام ۵۰٪ محاسبه شد. در گروه کنترل نیز از مجموع ۱۰۴ نفر فراوانی آللی C و T به ترتیب ۴۸/۱ ٪ و ۵۱/۹ ٪ بود. این نتایج نشان دادندکه ازلحاظ آماری ارتباط معناداری بین فراوانی آلل‌های C و T و ریسک ابتلا به کاتاراکت پیری وجود نداشت (P-value=۰/۴۵۹).

جدول ۲: فراوانی ژنوتیپ و آللی پلی‌مورفیسمC/T ژن سوپراکسیددیسموتاز II در بیماران مبتلابه کاتاراکت پیری و افراد سالم

	گروه کنترل ۱۰۴n= تعداد (درصد)	گروه بیمار ۱۲۰ n= تعداد (درصد)	OR(95% CI)	p-value
ژنوتیپ				
CC	۲۵(۲۴)	۳۴(۲۸/۳)	Referent	
CT	۵۰(۴۸/۱)	۵۲(۴۳/۳)	۱/۱۶(۰/۵۷-۲/۳۷)	۰/۷۱۶
TT	۲۹(۲۷/۹)	۳۴(۲۸/۳)	۰/۸۸۷(۰/۴۷-۱/۶۶)	۰/۷۰۹
آلل				
C	۱۰۰(۴۸/۱)	۱۲۰(۵۰)	Referent	
T	۱۰۸(۵۱/۹)	۱۵۰(۵۰)	۱/۱۵۷(۰/۸۱-۱/۶۶)	۰/۴۵۹

بحث و نتیجه‌گیری

آسیب اکسیداتیو در بدن، باعث به‌وجود آمدن بیماری‌هایی مثل بیماری‌های کاردیوواسکولار، بیماری‌های پوستی، بیماری‌های کبدی، بیماری‌های خود ایمنی، نارسایی کلیه، پرکاری تیروئید، کاتاراکت و ... می‌شود[۶]. تغییرات در ترکیبات پروتئینی و غیر پروتئینی در عدسی شامل: کاهش در تیول پروتئین‌ها، افزایش پیوندهای دی‌سولفیدی بین گروه تیول گلوتاتیون وگروه‌های تیول موجود در پروتئین (PSSG) و همچنین پیوندهای دی سولفیدی بین گروه تیول سیستئین و گروه‌های تیول پروتئین (PSSC)، افزایش درprotein-protein disulfide، تشکیل تجمعات پروتئینی با وزن مولکولی بالا، تغییرات تیول و غیر فعال شدن Na+/K+-ATPase، نفوذ methionin sulfoxid و cysteic acid در عدسی، تشکیل اتصالات دی‌سولفیدی در پروتئین‌های سیتوزول و غشاء، اکسیداسیون GSH و ascorbate، همچنین لیپید پراکسیداسیون همراه با تجمع malondialdehyde ، افزایش در سختی وکاهش انعطاف پذیری غشاء و شکست در رشته شواهدی دال بر ارتباط استرس اکسیداتیو و ایجادکاتاراکت است[۲].

مثل سایر ارگان‌ها، عدسی سیستم‌های آنزیمی بسیار توسعه یافته‌ای را برای دفاع آنتی‌اکسیدانی و همچنین مرمت و بازسازی اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌هایی که دچار تخریب اکسیداتیو شده‌اند، را دارا می‌باشد. عدسی ازنظر وجود آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز غنی می‌باشد. همچنین عدسی از پروتئاز و پروتئوزوم برای حذف پروتئین‌هایی که به وسیله اکسیداسیون تخریب شده‌اند، استفاده می‌کند[۲]. یکی از آنزیم‌هایی که در دفاع آنتی‌اکسیدانی در عدسی نقش دارد آنزیم سوپراکسیددیسموتاز II می‌باشد. ژن کد کننده MnSOD2 بر روی بازوی بلندکروموزوم۶ (6q25.3) قرار دارد. SOD2 در میتوکندری یافت شده است و حمایتی اساسی را در مقابل ROS های تولید شده در میتوکندری به علت سطح بالای اکسیژن فراهم می‌نماید، کمبود این آنزیم باعث افزایش سطوح آنیون سوپراکسید میتوکندریایی و مهار کمپلکس‌های اول و دوم زنجیره تنفسی می‌شود[۳]. اهمیت SOD2 با از بین رفتن ژن SOD2 که منجر به تخریب نورون و قلب و درنهایت باعث مرگ ارگانیسم‌های پستاندارن می‌شود، مشخص می‌گردد.[۷] تنها یک نسخه از ژن SOD2 در ژنوم وجود دارد که از پنج اگزون و چهار اینترون تشکیل شده است.[۸] یکی از پلی‌مورفیسم‌های ژن SOD2، جابجایی C/T در نوکلئوتید ۴۷ در اگزون۲ و کدون۲، در موقعیت ۹- و شانزدهمین ریشه در توالی راهبر میتوکندریایی می‌باشد که باعث جانشینیAla/Val می‌شود[۹و۱۰]این جانشینی ساختار آلفا- هلیکس پروتئین را تغییر داده و در برداشت آنزیم توسط ماتریکس میتوکندری نقش دارد. آلل والین باعث کاهش انتقال آنزیم و کاهش سیستم دفاعی در برابر رادیکال‌های آزاد می‌شود.[۱۰]

در بیشتر مطالعات صورت گرفته محققان میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در کاتاراکت بررسی کرده اند. مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۷ توسط بخش چشم‌پزشکی دانشکده پزشکی Burdwan انجام شد، نشان داد که فعالیت SOD پلاسما در بیماران باکاتاراکت پیری کمتر از افراد بدون کاتاراکت بوده است.[۱۱]

در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۸۴ توسط F. Jacques Paul و همکارانش انجام شد، وضعیت مارکرهای آنتی‌اکسیدانی در ۱۱۲ فرد ۷۰-۴۰ ساله مبتلابه کاتاراکت پیری بررسی شد. نتایج نشان می‌دهند که آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز با افزایش درجه کاتاراکت کاهش می‌یابند.[۱۲]

همچنین بر اساس تحقیقات انجام‌شده توسط Chandrasena و همکارانش در سال ۲۰۰۶ در سریلانکا بر روی افراد دارای کاتاراکت پیری و کاتاراکت دیابتیک، کاهش چشمگیری در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز اریتروسیتی در افراد دچار کاتاراکت پیری نسبت به مبتلایان به کاتاراکت دیابتیک دیده شد. همچنین سطوح پایین‌تری از پراکسیداسیون لیپیدها و سطح بالاتری از گلوتاتیون احیاء در کاتاراکت دیابتیک نسبت به نوع کاتاراکت پیری یافت شد[۱۳].

تاکنون مطالعات زیادی درزمینهٔ ارتباط پلی‌مورفیسم بررسی شده در این مطالعه و بسیاری از بیماری‌ها صورت گرفته است، در حالی که کمتر به بررسی نقش پلی‌مورفیسم ذکر شده در ایجاد کاتاراکت پرداخته شده‌است.

Woodson و همکارانش در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۳ نقش پلی‌مورفیسم C/T را در پیشرفت سرطان پروستات در مردان

سیگاری مورد بررسی قرار دادند. آنها دریافتند میزان ابتلا به سرطان پروستات در مردانی که دارای ژنوتیپ Ala/Ala می‌باشند، ۷۰٪ بیشتر از مردانی است که دارای ژنوتیپ Val/Val هستند.[۱۴]

در مطالعه‌ای دیگر Stoehlonacher و همکارانش در سال ۲۰۰۲ دریافتند که بین وجود آلل آلانین و افزایش ریسک ابتلا به سرطان کولورکتال (Colorectal) ارتباط وجود دارد.[۱۵]

در بررسی انجام‌شده توسط Strokov و همکارانش در سال ۲۰۰۳ مشخص شد که پلی‌مورفیسم C/T در ژن SOD2 و وجود آلل والین باعث افزایش ابتلا به نوروپاتی دیابتی در بیماران مبتلابه دیابت نوع I می‌شود.[۱۶]

هر چند سوپراکسید دیسموتاز از اجزاء مهم دفاع سلول در برابر استرس اکسیداتیو می‌باشد اما بر طبق نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، بین پلی‌مورفیسم C/T در ژن سوپراکسیددیسموتاز نوع II (SOD2) و ریسک ابتلا به کاتاراکت پیری ارتباط معناداری یافت نشد. برای نبودن این ارتباط چند توضیح وجود دارد: اول اینکه کاتاراکت بیماری چندعاملی است و پاتوژنز پیچیده‌ای دارد. علاوه بر آن، کاتاراکت می‌تواند به علت تماس طولانی مدت عدسی با عوامل فیزیولوژیکی مانند پراکسیدهیدروژن و اشعه ماوراء بنفش از طریق مایع زلالیه ایجاد شود. ثانیاً در معرض قرارگرفتن و بر همکنش ژن‌های دیگر شرکت‌کننده در پروسه دفاع آنتی‌اکسیدانی ممکن است اثرات پلی‌مورفیسم سوپراکسید دیسموتاز را تغییر دهد.[۱۷]

تشکر و قدردانی

این مطالعه از محل هزینه‌های طرح شماره ۲۲۴۹-۸۹ مصوب حوزه پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان انجام‌شده است. لذا از معاونت محترم پژوهشی به دلیل تأمین هزینه‌ها و کارشناسان مرکز چشم‌پزشکی الزهرا به خاطر همکاری در تهیه نمونه‌ها تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Mirsamadi M, Nourmohammadi I, Imamian M. Comparative study of serum Na^+ and K^+ levels in senile cataract patients and normal individuals. Int J Med Sci 2004;1(3):165-69.

2. Lou MF, Crabb JW. Oxidative stress in the eye:age-related cataract and retinal degeneration. In: Banerjee R, editor. redox biochemistry. New Jersey: John Wiley & Sons; 2007: 194-99.

3. Pasupathi P, Bakthavathsalam G, Saravanan G, Latha R. Evaluation of oxidative stress and antioxidant status in patients with diabetes mellitus. J App Sci Res 2009;5(7):770-75.

4. Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P, Lomri A. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: Role in joint diseases. Joint Bone Spine 2007;74:324-29.

5. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: the first twenty years (1968-1988). Free Radic Biol Med 1998;5(5–6):363–69.

6. Marlin DJ, Dunnett CE. Oxidative stress, oxidative damage and antioxidants – a beginners guide 2007.Available from:URL:http:// www. David. marlin. co. uk. Accessed 1 November , 2011.

7. Lebovitz RM, Zhang H, Vogel H, Cartwright JR, Dionne L, Lu N, et al. Neurodegeneration, myocardial injury, and perinatal death in mitochondrial superoxide dismutase-deficient mice. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:9782-87.

8. Wan X, Devalaraja MN, St.Clair DK. Molecular structure and organization of the human manganese superoxide dismutase gene. DNA Cell Biol 1994;13:1127–36.

9. Flekac M, Skrha J, Hilgertova J, Lcinova Z, Jarolimkova M. Gene polymorphisms of superoxide dismutases and catalase in diabetes mellitus. BMC Medical Genetics[serial on line];9:[9screen]. Available from: http://www.biomedcentral.com. Accessed10 September, 2011.

10. Lightfoot TJ, Skibola CF, Smith AG, Forrest MS, Adamson PJ, Morgan GJ, et al. Polymorphisms in the oxidative stress genes,superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase and risk of non-Hodgkin's lymphoma. haematologica/the hematology journal 2006;91(9):1222-27.

11. Chakraborty I, Kunti S, Bandyopadhyay M, Dasgupta A, Chattopadhyay GD, Chakraborty S. Evaluation of serum zinc level and plasma SOD activity in senile cataract patients under oxidative stress. IJCB 2007; 22(2):109-13.

12. Jacques PF, Chylack LT, Mcgandy RB, Hartz SC. Antioxidant status in persons with and without senile cataract. Arch Ophtalmol 1988;106:337-40.

13. Chandrasena LG, Chackrewarthy S, Perera PTMJ, Silva DD. Erythrocyte antioxidant enzymes in patients with cataract. Ann Clin Lab Sci 2006;36:201-4.

14. Woodson K, Tangrea JA, Lehman TA, Modali R, Taylor KM, Snyder K, et al. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) polymorphism, α-tocopherol supplementation and prostate cancer risk in the α-Tocopherol, β-Carotene Cancer Prevention study (Finland). Cancer Causes Control 2003;14(6):513–18.

15. Stoehlmacher J, Ingles SA, Park DJ, Zhang W, Lenz HJ. The -9Ala /-9Val polymorphism in the mitochondrial targeting sequence of the manganese superoxide dismutase gene (MnSOD) is associated with age among Hispanics with colorectal carcinoma. Oncol Rep 2002;9:235–8.

16. Strokov IA, Bursa TR, Drepa OI, Zotova EV, Nosikov VV, Ametov AS. Predisposing genetic factors for diabetic polyneuropathy in patients with type 1 diabetes: a populationbased case-control study. Acta Diabetol 2003; 40(Suppl 2):S375-79.

17. Zhang Y, Zhang L, Sun DL, Li ZS, Wang L, Liu P. Genetic polymorphisms of superoxide dismutases, catalase, glutathione peroxidase in age-related cataract. Mol Vis 2011;17:2325-32.